

Основные результаты научно-методических работ ФГБУ «ВНИИКР» в 2011 году

В 2011 году ФГБУ «ВНИИКР» выполняло научно-методические работы в соответствии с планом, утвержденным Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору по следующим основным направлениям:

1. Подготовка проекта Единого перечня карантинных вредных организмов и проекта Единых фитосанитарных правил и норм для стран Таможенного союза (ТС).

2. Проведение анализа фитосанитарного риска вредных организмов, представляющих наибольшую угрозу для территории РФ и стран ТС.

3. Совершенствование методов выявления, лабораторной диагностики и карантинных фитосанитарных мероприятий в очагах карантинных вредных организмов (КВО).

4. Разработка и усовершенствование технологии и режимов обеззараживания подкарантинных материалов от карантинных и особо опасных вредителей растений и продуктов запаса.

5. Разработка национальных стандартов и стандартов организации в области карантина растений.

6. Повышение эффективности феромонных ловушек для выявления карантинных вредителей за счет усовершенствования процесса синтеза, повышения чистоты веществ и сочетания аттрактивных компонентов.

Для выполнения поставленных задач построен современный лабораторно-тепличный комплекс, приобретено современное лабораторное оборудование и высокочувствительные тест-системы.

В 2011 году в соответствии с планом первоочередных мероприятий, направленных на гармонизацию фитосанитарных мер стран Таможенного союза, специалисты ФГБУ «ВНИИКР» подготовили проект Единого перечня карантинных вредных организмов стран Таможенного союза и начали работу по

подготовке Единых карантинных фитосанитарных требований Таможенного союза к подкарантинной продукции:

- разработан план подготовки Единых карантинных фитосанитарных требований к подкарантинной продукции Таможенного союза;

- проанализированы карантинные фитосанитарные требования к подкарантинной продукции и порядок управления фитосанитарными рисками в ведущих странах мира;

- изучены и проанализированы карантинные фитосанитарные требования к подкарантинной продукции стран – членов Таможенного союза;

- продолжается разработка гармонизированной структуры проекта Единых карантинных фитосанитарных требований стран – членов ТС к подкарантинной продукции с учетом анализа фитосанитарного риска карантинных организмов и видов подкарантинной продукции при ее импорте и перевозках по территории стран – членов ТС.

За период с 2006 года по настоящее время специалисты ФГБУ «ВНИИКР» провели исследования по анализу фитосанитарного риска вредных организмов и разработали меры по управлению риском для 102 вредных организмов (в т.ч. по всем видам российского Перечня).

В 2011 году проанализирован фитосанитарный риск для Российской Федерации вредных организмов, которые уже проявили свою вредоносность в странах – торговых партнерах России. Была собрана и проанализирована информация о семи вредных организмах:

1. Азиатская плодовая мушка *Drosophila suzukii*.

Азиатская плодовая мушка *Drosophila suzukii* (Mats.) – вредитель плодовых и ягодных культур. Вид из Юго-Восточной Азии, в последние годы проник в страны Европы. *D. suzukii* заселяет неповрежденные плоды многих видов плодово-ягодных культур и винограда, потери урожая могут достигать 100%.

2. Фитофтороз декоративных и древесных культур *Phytophthora kernoviae*.

Возбудитель фитофтороза декоративных и древесных культур – *Phytophthora kernoviae* Brasier. В 2003 году патоген был обнаружен в Англии.

Риск от инвазии *P. kernoviae* для всех лесов и индустрии питомников Соединенного Королевства оценивается на сумму 4,6 миллиарда долларов.

3. Гватемальская картофельная моль *Tecia solanivora*.

Гватемальская картофельная моль *Tecia solanivora* Пов. – опасный вредитель картофеля и томатов. Средняя поврежденность клубней картофеля может достигать 43% в поле и 37,5% в хранилищах. Вид распространен в Центральной и Южной Америке, в 1999 г. отмечен на Канарских островах (Испания).

4. Американский садовый скрипун *Saperda candida*.

Американский садовый скрипун *Saperda candida* Fabricius – вредитель плодовых и декоративных деревьев и кустарников. В 2010 году *S. candida* был введен в список А1 ЕОКЗР, так как имеется опасность заражения плодовых и декоративных культур в странах Европы.

5. Западная черноголовая листовертка-почкоед *Acleris gloverana*.

Западная черноголовая листовертка-почкоед *Acleris gloverana* обитает в США и Канаде, повреждает хвойные породы деревьев. Вид введен в список А1 ЕОКЗР.

6. Еловая листовертка *Choristoneura fumiferana*.

7. Западная хвоевртка *Choristoneura occidentalis*.

Оба последних вида являются опаснейшими первичными вредителями хвойных пород деревьев, приносящими на североамериканском континенте огромный вред естественным лесам, лесопосадкам и, в особенности, лесопитомникам и лесосеменным хозяйствам США и Канады.

На основании проведенного анализа фитосанитарного риска данные виды рекомендованы для включения в проект Единого перечня карантинных объектов Таможенного союза.

Кроме того, проводятся работы по совершенствованию структуры и содержания анализов фитосанитарного риска. Для этого специалисты ФГБУ «ВНИИКР» начиная с 2008 года принимают участие в работе экспертной группы

Европейской и Средиземноморской организации по карантину и защите растений (ЕОКЗР) по развитию анализа фитосанитарного риска.

В 2011 году сотрудники ФГБУ «ВНИИКР» продолжали совершенствовать методы анализа фитосанитарного риска вредных организмов. Были разработаны и обсуждены на научно-методическом совете «Методические рекомендации по проведению краткого анализа фитосанитарного риска для вредных организмов», гармонизированные с международными (ФАО) и региональными (ЕОКЗР) стандартами.

Освоены и внедряются рекомендуемые ЕОКЗР для оценки фитосанитарного риска современные методы и инструменты, в том числе специализированная компьютерная программа CAPRA (Computer Assisted Pest Risk Analysis).

С 2007 года ученые ФГБУ «ВНИИКР» разрабатывают в соответствии с действующими международными диагностическими протоколами современные методики по выявлению и идентификации вредных организмов. На данный момент подготовлено 39 новых методических рекомендаций по выявлению и идентификации вредных организмов, гармонизированных с диагностическими протоколами ЕОКЗР, 22 из них переведены в стандарты организации.

В 2011 году подготовлена методика по выявлению и идентификации амброзии полыннолистной и начата подготовка методических рекомендаций по выявлению и идентификации трех вредных организмов:

- японского жука *Popillia japonica*;
- картофельного жука – блошки клубневой *Epitrix tuberis*;
- южноамериканской томатной моли *Tuta absoluta*.

С целью оптимизации научных исследований и внедрения новых методов экспертизы в области карантина растений ФГБУ «ВНИИКР» заключило 14 соглашений с различными научно-исследовательскими и производственными учреждениями, в том числе с семью зарубежными:

1. Всероссийский институт защиты растений Россельхозакадемии (ГНУ «ВИЗР»).

2. Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха (ГНУ «ВНИИКХ им. А.Г. Лорха»).
3. Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ГНУ «ВНИИФ»).
4. Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева (ФГОУ ВПО РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева).
5. Дальневосточный научно-исследовательский институт защиты растений (ГНУ «ДВНИИЗР»).
6. Всероссийский институт биологической защиты растений (ГНУ «ВНИИБЗР»).
7. Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства (ФГУ «ВНИИЛМ»).
8. Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ФГНУ «ВНИИЗР»).
9. Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова (ИПЭЭ РАН).
10. Зоологический институт РАН (ЗИН РАН).
11. ФГУ «Рослесозащита».
12. ФГУ «Российский сельскохозяйственный центр».
13. Учреждение Российской Академии наук Центр «Биоинженерия» (Центр «Биоинженерия» РАН).
14. Курильский государственный заповедник.
15. Ассоциация «TRANSAGRO», Литва.
16. Институт защиты растений, Болгария.
17. Нанкинский университет леса, Нанкин, КНР.
18. Женевский институт естественной истории.
19. Софийский музей естественной истории.
20. Институт защиты растений и экологического земледелия, Республика Молдова.

21. Научно-производственная фирма «БИОХИМТЕХ», Республика Молдова.

В 2010 году ФГБУ «ВНИИКР» стало партнером программы международных научных исследований в области карантина растений EUPHRESO (EUropean PHytosanitary RESearch COordination). В настоящее время специалисты ФГБУ «ВНИИКР» принимают участие в двух научных международных проектах программы: «Методы диагностики возбудителя рака картофеля *Synchytrium endobioticum*, включая идентификацию патотипов» и «Фитосанитарная диагностика, выявление в полевых условиях и эпидемиология ожога плодовых».

С 2005 года ФГБУ «ВНИИКР» активно занимается внедрением в практику карантинной экспертизы современных методов диагностики, включая серологические и молекулярные методы, которые являются основой всех международных диагностических протоколов. В 2011 году в ФГБУ «ВНИИКР» выполнялось 11 научных работ по совершенствованию методов лабораторной экспертизы, 10 из которых рассчитаны на несколько лет. Большое внимание уделяется разработке комплекса молекулярных методов диагностики наиболее сложно идентифицируемых видов, использованию моноклональных сывороток при иммуноферментном анализе, современных модификаций биохимических тестов для бактерий, совершенствованию питательных сред для выращивания микроорганизмов.

С 2009 года в отделе диагностики ФГБУ «ВНИИКР» начал использоваться метод рестрикционного анализа продуктов амплификации (RFLP-PCR), который позволяет идентифицировать карантинные организмы, в том числе и на уровне штаммов и патотипов.

В 2011 году в ФГБУ «ВНИИКР» приобретен и используется при проведении исследований секвенатор ABI PRISM 3500. Секвенирование ДНК является самой передовой модификацией молекулярного метода, позволяющей самостоятельно расшифровывать нуклеотидную последовательность определенного участка генома. С помощью секвенирования можно с высокой

степенью достоверности идентифицировать карантинные организмы на любой стадии развития и при отсутствии морфологических признаков. Без секвенирования невозможна разработка других молекулярно-генетических методов для малоизученных объектов, нуклеотидные последовательности которых отсутствуют в международных генетических банках.

В 2011 году введен в эксплуатацию новый для карантинной экспертизы прибор – спектрофотометр NanoDrop (ND-2000 Technologies) для определения чистоты и количества выделенной ДНК при пробоподготовке, что позволяет оптимизировать применение молекулярных методов при экспертизе.

С целью изучения возможностей применения новейшего оборудования с 04 по 07 апреля 2011 года специалистами ФГБУ «ВНИИКР» был организован и проведен семинар с участием представителей ведущих мировых фирм-производителей оборудования из России, Германии, Чехии, Японии и США.

Один из современных методов – дифференциально-интерференционный контраст (DIC-метод) был изучен и применен для разработки методов идентификации карантинных видов трипсов. Установлено, что при использовании DIC-метода резко возрастают скорость и достоверность визуальной идентификации трипсов. Этот же метод был использован для идентификации некарантинных видов трипсов, обнаруженных при экспертизе образцов подкарантинной продукции. Полученные данные будут использованы при подготовке диагностических протоколов трипса Пальма *Thrips palmi* Karny и западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* Perg. в 2012 году.

Кроме того, сотрудники ознакомились с европейскими системами управления информацией в лабораториях.

В 2011 году в соответствии с планом работ подготовлено 11 отчетов по разработке и совершенствованию методов выявления и идентификации карантинных организмов, локализации и ликвидации очагов:

1. «Заключительный отчет по разработке молекулярного метода идентификации калифорнийского трипса *Frankliniella occidentalis*».

При разработке молекулярных методов диагностики калифорнийского трипса (*Frankliniella occidentalis*) были проведены сравнительные испытания различных методов идентификации четырех видов трипсов, наиболее часто встречающихся в подкарантинном материале различных культур: *Frankliniella occidentalis*, *Frankliniella intonsa*, *Thrips tabaci* и *Hercinothrips femoralis*. Для диагностики трипсов использовали морфологический метод с приготовлением препаратов, ПЦР со специфическими праймерами, ПЦР «в реальном времени» с построением кривых плавления, ПЦР-RFLP и прямое секвенирование. Установлено, что наиболее достоверные результаты достигаются путем секвенирования продукта амплификации гена цитохромоксидазы субъединицы I. Во всех случаях результаты молекулярной диагностики методами ПЦР-RFLP и прямого секвенирования полностью соответствовали результатам морфологической идентификации трипсов. Разработанный тест позволяет уточнить результаты морфологической идентификации при установлении фитосанитарного состояния подкарантинной продукции, особенно если насекомые находятся в личиночной стадии.

2. «Промежуточный отчет по изучению эффективности биологических пестицидов (фитолавин, фитоплазмин) для контроля карантинных возбудителей бактериальных заболеваний растений».

В 2011 году на базе ФГБУ «ВНИИКР» была начата работа по изучению эффективности биологических пестицидов (фитолавин, фитоплазмин) для контроля карантинных возбудителей бактериальных заболеваний растений – бактериального ожога плодовых культур *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. и бурой гнили картофеля *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. Исследования с культурами этих патогенов проводили в лабораторных условиях и на карантинном вегетационном участке в лизиметрах. В результате работы установлено, что из испытанных биопрепаратов наибольшую эффективность в отношении исследуемых патогенов проявляет фитолавин. Запланированы дальнейшие полевые и лабораторные исследования этого и других препаратов в

целях разработки методов локализации и ликвидации очагов бурой гнили картофеля и бактериального ожога плодовых культур.

3. «Промежуточный отчет по изучению вредоносности карантинных сорных растений – повилик (*Cuscuta* spp.) и их значения в качестве переносчиков патогенов».

При разработке методов локализации и ликвидации очагов карантинных вредных организмов особое значение имеет учет условий их сохранения и распространения вне растения-хозяина. В частности, известно, что многие микоплазмы и вирусы способны передаваться от растения к растению при помощи повилик *Cuscuta* spp., используя эти паразитические растения в качестве переносчиков среди растений-хозяев. Такие способности повилик используют в генной инженерии – для заражения растений вирусами в тех случаях, когда никакими другими способами это не удастся сделать. Однако никогда ранее этот феномен не исследовали с фитосанитарной точки зрения. Кроме того, остается неизвестным, могут ли вирусы и микоплазмы, попав в растения повилик, сохраняться в их плодах и семенах и вновь передаваться с новым поколением паразитических растений. Для решения этой проблемы в 2011 году в отделе фитосанитарной биологии приступили к изучению возможности сохранения и распространения карантинных возбудителей заболеваний растений паразитическими растениями – повиликами. Для этого в карантинной лаборатории учреждения были отработаны методы ведения культур полевой повилики *C. campestris* и европейской повилики *C. europaea*.

4. «Промежуточный отчет по совершенствованию молекулярно-генетических и серологических методов диагностики *Erwinia amylovora* и изучение биохимических и генетических свойств российских штаммов и изолятов».

При использовании иммуноферментного, иммунофлуоресцентного методов и теста на патогенность возможны ложноположительные реакции.

Применение классической ПЦР позволило практически безошибочно идентифицировать *Erwinia amylovora*. Ложноположительная реакция наблюдалась только с *Rahnella* sp., что требует дальнейшего изучения.

Применение биохимического метода диагностики с использованием тест-систем API-20E и «РАПИД-ЭНТЕРО 200 М» позволило достоверно идентифицировать *Erwinia amylovora* только в случаях наличия чистой культуры возбудителя.

5. «Промежуточный отчет по изучению биологических особенностей и разработка методов диагностики возбудителей водянистой гнили картофеля *Dickeya solani* и *D. dianthicola*».

Начата разработка методов диагностики возбудителей бактериальной водянистой гнили картофеля *Dickeya solani* и *D. dianthicola*. Проведена отработка методов выделения бактерий на селективные питательные среды и сравнительное испытание нескольких антисывороток для их серологической идентификации. Совместно с ВНИИ картофельного хозяйства проводятся работы по получению антисывороток к российским штаммам *Dickeya* spp.

6. «Промежуточный отчет по совершенствованию методов диагностики возбудителя бактериального ожога риса *Xanthomonas oryzae* с использованием метода ПЦР».

На основе имеющейся коллекции референтных штаммов и близкородственных видов подобраны праймеры, позволяющие идентифицировать все известные ксантомонады до рода. Эти праймеры могут быть предложены в качестве отборочных при проведении экспертизы. Для специфической идентификации *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* методом прямого секвенирования были успешно испытаны две пары праймеров к различным участкам генома этого патогена.

7. «Промежуточный отчет по разработке методов диагностики *Phytophthora fragariae*».

При разработке методов диагностики возбудителя фитофтороза земляники и малины *Phytophthora fragariae* были оптимизированы методы выделения ДНК

этого патогена из мицелия и биоприманок. На основе имеющийся коллекции референтных штаммов были отобраны несколько пар специфических праймеров, которые позволяют идентифицировать 6 видов фитопфтор, паразитирующих на корнях малины и земляники, – *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* и *Phytophthora fragariae* var. *rubi*. Секвенирование полученных продуктов амплификации позволило найти существенные различия между различными видами фитопфтор и разработать универсальные праймеры и специфические зонды для постановки ПЦР «в реальном времени». В результате разработана тест-система, позволяющая одновременно идентифицировать в одной пробирке четыре вида фитопфтор – *Ph. fragariae* var. *fragariae*, *Ph. cactorum*, *Ph. nicotianae* и *Phytophthora citricola*.

8. «Промежуточный отчет по совершенствованию методов диагностики и изучение генетических свойств российских изолятов вируса шарки слив *Plum rox virus*».

С использованием штаммспецифичных моноклональных антител и праймеров, PCR-RFLP и секвенирования продуктов амплификации проведена идентификация штаммов для 133 изолятов вируса шарки слив, выявленных в 13 субъектах Российской Федерации.

Установлено, что наиболее широко распространен штамм PPV-D, 51 изолят которого был идентифицирован на вишне обыкновенной и вишне войлочной в Волгоградской и Московской областях, на сливе в Республике Дагестан, Краснодарском и Ставропольском краях, Астраханской, Волгоградской, Липецкой, Московской, Ростовской, Тамбовской областях и на абрикосе в Московской области.

Все изоляты штамма PPV-D реагировали с моноклональными антителами линии 4D, праймерами P1/PD и имели сайты рестрикции Rsa1 и Alu1. Сиквенсы продуктов этих изолятов (243 п.о.), амплифицируемых праймерами P1/P2, на 97-100% соответствовали таковым у референтных изолятов штамма PPV-D в генбанке данных.

Двадцать три изолята штамма PPV-M идентифицированы на персике и сливе в Краснодарском крае и на сливе в Ставропольском крае. Эти изоляты реагировали с моноклональными антителами линии AL, праймерами P1/PM, имели сайт рестрикции Alu1, но не имели сайта Rsa1, а сиквенсы их продуктов амплификации (243 п.о.) на 97-100% соответствовали последовательностям нуклеотидов референтных изолятов штамма PPV-M.

Изоляты штамма PPV-C (Cherry) идентифицированы в Белгородской области на черешне (BelR-19, BelR-20) и вишне-черешневом подвое формы П-7 (BelR-131) и в Волгоградской области на вишне (VolK-143, VolK-144). Данные изоляты реагировали с моноклональными антителами линии AC, специфичными к штамму PPV-C, но различались по реакции с праймерами CSoC-2/HSoC-2 и M10/M11.

Тридцать один изолят штамма PPV-W идентифицирован на вишне войлочной и сливе в Московской области, на сливе и терне в Белгородской области и на сливе Воронежской, Липецкой, Ростовской областях, Ставропольском крае и Республике Дагестан.

Все изоляты штамма PPV-W не имеют сайтов рестрикции Rsa1 и Alu1 на 3'-конце гена белка оболочки, не реагируют с моноклональными антителами, специфичными к штаммам PPV-D, PPV-M, PPV-C и PPV-EA, но реагируют с праймерами 3174spR1/3174spF3 и W8328-F/W8711-R, специфичными к штамму PPV-W.

В Самарской и Саратовской областях на растениях вишни выявлены изоляты PPV, отличающиеся по серологическим и генетическим свойствам от всех известных штаммов. Эти изоляты реагируют с поликлональными антителами к PPV различных фирм и универсальными праймерами, но не реагируют со штаммспецифичными праймерами и всеми испытанными моноклональными антителами, включая универсальные моноклональные антитела линии 5B.

Согласно проведенному филогенетическому анализу, данная группа изолятов образует четкий обособленный кластер. Эти изоляты филогенетически

наиболее близки, но не родственны штамму PPV-C, более отдаленно – штамму PPV-W, и отчетливо дистанцируются от штаммов PPV-D, PPV-M, PPV-Rec, PPV-T и PPM-EA. Комплекс изученных свойств позволяет сделать вывод о принадлежности изолятов PPV из Самарской и Саратовской областей к новому, ранее неизвестному штамму этого вируса.

Изоляты штаммов PPV-D, PPV-M и PPV-W индуцируют различные типы симптомов на растениях сливы. Аналогичная закономерность наблюдается также для изолятов различных штаммов PPV, заражающих растения вишни обыкновенной.

9. «Промежуточный отчет по разработке и совершенствованию методов выявления и идентификации карантинных и других особо опасных вирусов картофеля: APLV, APMoV, PVT, PYDV, PAMV, PMTV».

Впервые в мировой практике разработан ПЦР-тест для выявления карантинных объектов – андийского латентного вируса картофеля (APLV) и андийского вируса крапчатости картофеля (APMoV), а также для вируса желтой карликовости картофеля (PYDV), являющегося объектом внешнего карантина ЕОКЗР. Исследования проводились с референтными изолятами APLV, APMoV и PYDV, полученными из германской коллекции фитопатогенов. Испытано несколько пар праймеров, комплементарных различным участкам генома этих вирусов, отработаны условия выделения РНК, режимы обратной транскрипции и амплификации. Разработанные тест-системы позволяли эффективно диагностировать APLV, APMoV и PYDV в чистых культурах и искусственно инокулированных растениях картофеля. Не отмечено их реакции с другими вирусами, заражающими картофель, а также с компонентами генома здоровых растений картофеля. Секвенирование продуктов амплификации подтвердило их специфичность.

Проведено также успешное испытание двух пар праймеров для молекулярной диагностики вируса аукуба мозаики (PAMV) – опасного патогена картофеля.

10. «Промежуточный отчет по разработке и совершенствованию методов диагностики потенциально карантинных вирусов кольцевой пятнистости томата *Tomato ringspot virus*, кольцевой пятнистости табака *Tobacco ringspot virus*, некротической пятнистости бальзамина *Impatiens necrotic spot virus*, некротического пожелтения жилок свеклы *Beet necrotic yellow vein virus*».

Впервые в РФ отработаны ПЦР-тесты для выявления и идентификации потенциально карантинных вирусов кольцевой пятнистости томата (ToRSV), кольцевой пятнистости табака (TRSV), некротической пятнистости бальзамина (INSV) и бронзовости томата (TSWV). Проведен мониторинг этих вирусов в импортном подкарантинном материале семян, плодовых и декоративных культур, а также в нескольких оранжерейных хозяйствах Московской области.

Впервые в РФ выявлен и идентифицирован на серологическом и молекулярном уровнях вирус некротической пятнистости бальзамина – опасный патоген овощных и декоративных культур.

Проведено также изучение изолята вируса кольцевой пятнистости табака, выявленного на декоративных культурах в оранжерее Плодовой станции МСХА имени Тимирязева.

11. «Промежуточный отчет по разработке методов выявления и идентификации *Phytophthora ramorum*».

Проведено сравнительное изучение культурально-морфологических характеристик возбудителя фитофтороза древесных и кустарниковых культур *Phytophthora ramorum* и других видов *Phytophthora*, встречающихся на этих культурах, с целью определения диагностических признаков для их дифференциации.

В 2011 году в ФГБУ «ВНИИКР» проведены исследовательские работы по установлению природы заболевания «вилт хвойных пород», которое, как считается в последнее время, вызывается комплексом патогенов – нематодами и переносимыми ими бактериями. Исследования проводились с широким применением методов молекулярной биологии совместно с учеными из других научных учреждений РФ (РАН) и зарубежных стран.

Большое внимание специалистами ФГБУ «ВНИИКР» уделяется валидации методов диагностики, так как одним из важнейших требований при аккредитации лабораторий является признание надежности и достоверности используемых методов. В 2011 году в отделе диагностики подготовлены отчеты по валидации ПЦР-метода для пяти карантинных вредных организмов.

В 2008 году начата работа по подготовке нового типа методических материалов по проведению карантинных фитосанитарных мероприятий в очагах карантинных вредных организмов. За период с 2008 года по настоящее время подготовлено 50 методик по локализации и ликвидации очагов карантинных вредных организмов, 39 из них переведены в стандарты организации.

В 2011 году продолжены исследования с целью разработки методов локализации и ликвидации карантинных вредных организмов. Для этих целей в течение ряда лет проводят исследования энтомофагов карантинных вредных организмов, в частности, хищного клопа-щитника пикромеруса *Picromerus bidens* L. В 2011 году в соответствии с соглашением о научном сотрудничестве между ФГБУ «ВНИИКР» и Дальневосточным научно-исследовательским институтом защиты растений в Приморском крае были проведены испытания пикромеруса против двадцативосьмипятнистой картофельной коровки *Epilachna vigintioctomaculata* Motsch. – вида, по результатам АФР предложенного для включения в Единый перечень карантинных объектов Таможенного союза. После включения картофельной коровки *Epilachna vigintioctomaculata* в Единый перечень карантинных объектов Таможенного союза ФГБУ «ВНИИКР» может рекомендовать пикромеруса для локализации и ликвидации очагов этого карантинного вредного организма.

В 2011 году в Центральном Европейском биологическом журнале (Central European Journal of Biology) опубликованы результаты проведенного в ФГБУ «ВНИИКР» изучения коммуникативных особенностей поведения пикромеруса для оптимизации методов наработки и применения энтомофага.

ФГБУ «ВНИИКР» является методическим центром по вопросам обеззараживания подкарантинной продукции и материалов.

Отдел обеззараживания ФГБУ «ВНИИКР» проводит экспериментальные работы с различными фумигантами по подбору альтернативных бромистому метилу препаратов. По результатам испытаний новых препаратов – йодистого метила, фтористого сульфурила и нейтральных газов получены режимы обеззараживания складских помещений, зерна и зерновой продукции.

Испытываются препараты фосфина в новых областях, где ранее они не применялись – для обеззараживания леса и лесоматериалов, свежих фруктов, посадочного материала.

В 2011 году сотрудниками отдела подготовлено 4 отчета:

1. «Отчет по разработке приспособления для аэрозольных генераторов при обработке пустых силосов элеваторов контактными препаратами и его испытание».

Обеззараживание пустых силосов элеваторов как метод профилактики заражения зерна карантинными и некарантинными вредителями при его закладке на хранение известен достаточно давно.

Аэрозольная обработка является лучшим способом дезинсекции поверхностей. Генератор разбивает концентрат эмульсии препарата на мельчайшие капли и распределяет их равномерно в обрабатываемом помещении.

2. «Промежуточный отчет по изучению продольного и поперечного проникновения фосфина в древесину».

В последние годы все чаще стали возникать проблемы, связанные с использованием древесных упаковочных материалов при международных перевозках изделий, оборудования и другой продукции, не являющихся объектами карантинного контроля. Древесная упаковка и крепежная древесина требуют фитосанитарной регламентации, поскольку могут служить средством заноса и распространения карантинных вредных организмов.

Поскольку «Международный стандарт по фитосанитарным мерам МСФМ № 15» предусматривает фумигацию древесных упаковочных материалов только бромистым метилом, который имеет очень ограниченное применение, практическое значение приобретает возможность использования для этих целей

препаратов фосфина, проникновение которых в древесину не изучено, но имеет первостепенное значение для воздействия на вредные организмы.

3. «Промежуточный отчет по разработке режимов обеззараживания фосфином против диапаузирующих личинок капрового жука».

Капровый жук является одним из самых опасных вредителей зерна и различных продуктов его переработки. Для ликвидации его очагов во всем мире широко использовали бромистый метил. Однако в связи с резким ограничением его применения возникла необходимость разработать режимы обеззараживания продукции фосфином, особенно против наиболее устойчивой фазы этого вредителя – диапаузирующих личинок.

4. «Промежуточный отчет по испытанию новых фумигантных препаратов, альтернативных бромистому метилу и близких к нему по эффективности и фитотоксическому действию».

Лабораторные испытания показали, что йодистый метил представляет интерес для дальнейшего изучения как средство, альтернативное бромистому метилу, для фумигации различной продукции.

Предварительные данные, полученные за время опытов, показывают, что йодистый метил оказывает фитотоксическое действие на свежую продукцию.

В целях проведения единой политики по стандартизации в области карантина растений в ФГБУ «ВНИИКР» в 2009 году создан отдел стандартизации.

За период с 2009 года по настоящее время отделом разработаны 65 стандартов организации. Кроме того, Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии были зарегистрированы официальные переводы 32 международных стандартов по фитосанитарным мерам Организации по продовольствию и сельскому хозяйству ООН (ФАО) и 12 региональных стандартов по фитосанитарным мерам ЕОКЗР.

В 2011 году подготовлено 24 стандарта организации, в том числе 12 стандартов организации по методам выявления и идентификации карантинных вредных организмов, 9 стандартов организации по проведению карантинных

фитосанитарных мероприятий в очагах карантинных вредных организмов и 3 общих стандарта:

1. СТО ВНИИКР 3.005-2011 «Фитофторозная корневая гниль земляники и малины *Phytophthora fragariae*. Методы выявления и идентификации».

2. СТО ВНИИКР 2.024-2011 «Тутовая щитовка *Pseudaulacaspis pentagona*. Методы выявления и идентификации».

3. СТО ВНИИКР 3.006-2011 «Возбудитель фомопсиса подсолнечника *Diaporthe helianthi*. Методы выявления и идентификации».

4. СТО ВНИИКР 2.020-2011 «Картофельная моль *Phthorimaea operculella*. Методы выявления и идентификации».

5. СТО ВНИИКР 3.008-2011 «Возбудители диплоидоза кукурузы *Stenocarpella maydis* и *Stenocarpella macrospora*. Методы выявления и идентификации».

6. СТО ВНИИКР 2.026-2011 «Кукурузный жук *Diabrotica virgifera*. Методы выявления и идентификации».

7. СТО ВНИИКР 5.002-2011 «Потивирус шарки слив Plum pox potyvirus. Методы выявления и идентификации».

8. СТО ВНИИКР 6.004-2011 «Галловые нематоды *Meloidogyne fallax* и *M. chitwoodi*. Методы выявления и идентификации».

9. СТО ВНИИКР 4.009-2011 «Возбудитель бурой бактериальной гнили картофеля *Ralstonia solanacearum*. Методы выявления и идентификации».

10. СТО ВНИИКР 3.009-2011 «Возбудитель сосудистого микоза дуба *Ceratocystis fagacearum*. Методы выявления и идентификации».

11. СТО ВНИИКР 5.004-2011 «Вирус андийской крапчатости картофеля Potato Andean mottle comovirus. Методы выявления и идентификации».

12. СТО ВНИИКР 5.003-2011 «Андийский латентный тимовирус картофеля Potato Andean latent tymovirus. Методы выявления и идентификации».

13. СТО ВНИИКР 2.022-2011 «Картофельный жук – блошка клубневая *Epitrix tuberis*. Порядок проведения карантинных фитосанитарных мероприятий в очагах».

14. СТО ВНИИКР 4.008-2011 «Возбудитель бактериального увядания винограда *Xylophilus ampelinus*. Порядок проведения карантинных фитосанитарных мероприятий в очагах».

15. СТО ВНИИКР 2.021-2011 «Американская белая бабочка *Huphantria cunea*. Порядок проведения карантинных фитосанитарных мероприятий в очагах».

16. СТО ВНИИКР 2.024-2011 «Тутовая щитовка *Pseudaulacaspis pentagona*. Порядок проведения карантинных фитосанитарных мероприятий в очагах».

17. СТО ВНИИКР 2.023-2011 «Средиземноморская плодовая муха *Ceratitis capitata*. Порядок проведения карантинных фитосанитарных мероприятий в очагах».

18. СТО ВНИИКР 4.007-2011 «Возбудитель золотистого пожелтения винограда *Grapevine flavescence doree phytoplasma*. Порядок проведения карантинных фитосанитарных мероприятий в очагах».

19. СТО ВНИИКР 2.027-2011 «Яблонная муха *Rhagoletis pomonella*. Порядок проведения карантинных фитосанитарных мероприятий в очагах».

20. СТО ВНИИКР 7.008-2011 «Ценхрус малоцветковый *Cenchrus rauciflorus*. Порядок проведения карантинных фитосанитарных мероприятий в очагах».

21. СТО ВНИИКР 3.007-2011 «Возбудители диплоидоза кукурузы *Stenocarpella maydis* и *Stenocarpella macrospora*. Порядок проведения карантинных фитосанитарных мероприятий в очагах».

22. СТО ВНИИКР 8.001-2011 «Семенной и продовольственный картофель. Нормы отбора образцов клубней для проведения карантинной фитосанитарной экспертизы».

23. СТО ВНИИКР 1.002-2011 «Проведение работ по стандартизации. Методы оценки трудоемкости и стоимости».

24. СТО ВНИИКР 1.003-2011 «Технические условия в области карантина растений. Правила разработки, оформления, обозначения, обновления и отмены».

В 2011 году начата разработка межгосударственного стандарта по терминологии в области карантина растений – «Карантин растений. Термины и определения», разрабатываемого взамен ГОСТ 20762-75 «Карантин растений. Термины и определения».

Совместно со специалистами отдела синтеза и применения феромонов впервые были разработаны 15 технических условий на синтетические феромоны и 15 технических условий на диспенсеры с синтетическими феромонами, производимым в ФГБУ «ВНИИКР» к 15 видам вредных организмов.

В 2009 году в ФГБУ «ВНИИКР» создана научно-производственная база по синтезу и производству феромонов.

К настоящему времени наработаны для проведения мониторинга феромоны, специфичные для 14 вредителей, подготовлено 12 методик синтеза феромонов и 10 методик испытания феромонов.

В 2011 году было произведено и использовано Россельхознадзором для мониторинга карантинного фитосанитарного состояния территории РФ около 80 тысяч ловушек, что в 2,7 раза больше, чем в 2010 году. В результате на территории РФ выявлено 944 очага карантинных вредных насекомых на площади 750 тысяч га, в том числе 648 новых очагов. Впервые выявлены одиночные экземпляры западного кукурузного жука в Ростовской области, а также новые очаги восточной плодожорки – в Красноярском крае, томатной моли – в Краснодарском крае.

По итогам мониторинга, проведенного в 2011 году, подготовлен и направлен в Россельхознадзор итоговый отчет о применении феромонов для выявления очагов карантинных вредителей на территории РФ.

В рамках заключенных договоров о научно-техническом сотрудничестве ведутся работы по испытанию феромонов в научно-исследовательских

учреждениях Российской Федерации и зарубежных странах, в том числе в Украине, в республиках Молдова, Казахстан, Узбекистан, Болгария, Финляндия.

В 2011 году специалисты отдела синтеза и применения феромонов провели совместные полевые и лабораторные испытания феромонов 7 вредных организмов и подготовили 7 отчетов и 3 методики полевых испытаний биологической активности феромонов для выявления очагов карантинных вредных организмов (одна вне плана):

1. «Заключительный отчет по лабораторным испытаниям биологической активности феромона капрового жука *Trogoderma granarium* для выявления очагов».

2. «Заключительный отчет по полевым испытаниям биологической активности феромона восточной плодовой моли *Grapholitha molesta* для выявления очагов».

3. «Заключительный отчет по полевым испытаниям биологической активности феромона персиковой плодовой моли *Carposina niponensis* для выявления очагов».

4. «Заключительный отчет по полевым испытаниям биологической активности феромона картофельной моли *Phthorimaea operculella* для выявления очагов».

5. «Промежуточный отчет по полевым испытаниям биологической активности феромона кукурузного жука *Diabrotica virgifera* для выявления очагов».

6. «Промежуточный отчет по полевым испытаниям биологической активности феромона калифорнийской щитовки *Quadraspidiotus perniciosus* для выявления очагов».

7. «Промежуточный отчет по полевым испытаниям биологической активности феромона средиземноморской плодовой мухи *Ceratitis capitata* для выявления очагов».

8. «Методика полевых испытаний биологической активности феромона южноамериканской томатной моли *Tuta absoluta* для выявления очагов».

9. «Методика полевых испытаний биологической активности феромона тутовой щитовки *Pseudaulacaspis pentagona* для выявления очагов».

10. «Методика полевых испытаний биологической активности феромона калифорнийской щитовки *Diaspidiotus perniciosus* (Comstock) для выявления очагов».

В 2011 году в ФГБУ «ВНИИКР» был проведен анализ статистических методов с целью разработки в дальнейшем руководства по отбору образцов при досмотре грузов на подтверждение соответствия фитосанитарным требованиям. Были исследованы следующие методы: простой случайный отбор образцов, систематический отбор образцов, послыйный отбор образцов, кластерный отбор образцов, отбор образцов с фиксированной пропорцией. Кроме методов с использованием математической статистики, исследовали нестатистические методы – селективный или целевой отбор образцов. При исследованиях учитывали следующие параметры: методы отбора образцов должны быть практически осуществимыми, наиболее подходящими для достижения поставленной цели и хорошо документированными. Не основанные на статистике методы отбора образцов не приводят к тому, чтобы каждая единица включалась в образец с равной вероятностью, и не позволяют количественно оценить уровень достоверности или уровень выявления. Основанные на статистике методы отбора образцов должны быть применимы в том случае, если отбор образцов выполняется с целью получить информацию об общем фитосанитарном состоянии груза, выявить несколько различных карантинных вредных организмов или проверить груз на соответствие фитосанитарным требованиям. В итоге исследований подготовлены и прошли обсуждение на научно-методическом совете методические рекомендации по разработке норм отбора образцов от подкарантинной продукции с использованием методов математической статистики. Результаты данной работы будут использованы при подготовке норм отбора образцов от различных видов подкарантинной продукции при её досмотре на подтверждение соответствия фитосанитарным требованиям.

В 2011 году специалисты ФГБУ «ВНИИКР» исследовали проблемы и условия при экспорте зерновых культур в другие страны. Проводился анализ информации с целью составления перечня экспортируемой из России продукции зерновых культур, перечня стран – импортеров этой продукции и реестра фитосанитарных требований стран-импортеров. Для выполнения этих требований был проведен анализ фитосанитарного состояния посевов зерновых культур в Российской Федерации, а также мест хранения этой продукции и условий транспортировки. Планируемое завершение данной работы – март 2012 года.

В апреле 2008 года в качестве самостоятельной структуры воссоздан энтомологический музей ФГБУ «ВНИИКР».

В настоящее время музей развивается быстрыми темпами. Основное внимание уделяется формированию обновленной фондовой коллекции, которая уже насчитывает более 12000 экземпляров.

Одной из приоритетных долгосрочных задач музея является получение всех видов насекомых, включенных в карантинные перечни России, ЕОКЗР, NAPPO и других стран и международных организаций. И именно наличие собственного коллекционного фонда позволило начать такую работу по обмену энтомологическим материалом с зарубежными организациями и специалистами.

В июле-августе 2011 года в ходе командировки на остров Кунашир сотрудниками музея был собран обширный энтомологический материал (более 1500 экземпляров насекомых), в том числе не менее трех новых для науки видов жесткокрылых, статья с описаниями которых находится в стадии подготовки. Кроме того, в рамках соглашений о научном сотрудничестве в 2011 году специалистами музея совместно с коллегами из Женевского музея естественной истории (Швейцария) и из университета г. Катанья (Италия) опубликовано 2 научные статьи в ведущем международном журнале по систематике насекомых – *Zootaxa*.

Для идентификации энтомологических сборов ФГБУ «ВНИИКР» привлекает ведущих российских и зарубежных специалистов (сотрудничает с

МГУ, Институтом проблем экологии и эволюции, Зоологическим институтом, Женевским музеем естественной истории и рядом других учреждений).

Специалисты музея продолжили работу по инвентаризации энтомофауны территории ФГБУ «ВНИИКР». К настоящему времени на территории ФГБУ «ВНИИКР» зарегистрировано 1112 видов жесткокрылых, 25 видов полужесткокрылых и 114 видов чешуекрылых. По сравнению с 2010 годом число видов жесткокрылых, отмеченных на территории нашей организации, увеличилось более чем на 100 видов и составляет уже около 1/3 от числа всех видов, зарегистрированных в Московской области. Такое высокое биоразнообразие свидетельствует о создании очень благоприятной экологической обстановки на территории лесного массива ФГБУ «ВНИИКР».

Специалистами энтомологического музея в 2011 году на основе как собственного, так и полученного по обмену материала составлено 12 справочных коллекций:

1. Североамериканские короеды рода *Dendroctonus*.
2. Ясенева изумрудная узкотелая златка.
3. Картофельная моль.
4. Американская белая бабочка.
5. Средиземноморская плодовая муха.
6. Жуки усачи (Cerambycidae) территории ФГБУ «ВНИИКР».
7. Жуки жужелицы (Carabidae) территории ФГБУ «ВНИИКР».
8. Жуки листоеды (Chrysomelidae) территории ФГБУ «ВНИИКР».
9. Бабочки совки России.
10. Бабочки семейства парусников России.
11. Бабочки семейства белянок России.
12. Бабочки Дальнего Востока России.

Кроме энтомологического музея, ФГБУ «ВНИИКР» пополняет коллекции сорных растений (насчитывает около 3000 видов) и микологическим гербарием. Созданы коллекции карантинных и близких видов вирусов, бактерий и нематод (приобретен референтный материал в европейских научных центрах).

На основе проведенных исследований в 2011 году в ФГБУ «ВНИИКР» подготовлено и издано 59 научных статей, 8 из них в зарубежных изданиях.

В 2011 году подготовлена и в январе 2012 года издана книга «Карантин растений: прошлое и настоящее».

В 2011 году специалистами ФГБУ «ВНИИКР» подготовлен проект Глоссария гельминтологических терминов.

Продолжается работа над подготовкой руководства по энтомологической, микологической, гельминтологической и гербологической экспертизам.

В 2011 году на курсах повышения квалификации в области карантина растений в ФГБУ «ВНИИКР» обучено 306 специалистов (по плану необходимо было обучить 280).

Курсы повышения квалификации прошли:

- 143 специалиста из территориальных управлений Россельхознадзора;
- 102 специалиста из референтных центров и ветеринарных лабораторий;
- 61 специалист из филиалов ФГБУ «ВНИИКР».

Индивидуальные стажировки по выявлению и идентификации карантинных вредных организмов прошли 37 специалистов:

- 27 специалистов из референтных центров и ветеринарных лабораторий;
- 8 специалистов из филиалов ФГБУ «ВНИИКР»;
- 2 специалиста из территориальных управлений Россельхознадзора.